

TANAH 10/769,017



PCT

WORLD INTELLECTUAL PROPERTY ORGANIZATION
International Bureau

INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(51) International Patent Classification 6 : G01N 33/487		(11) International Publication Number: WO 98/38510	
A2		(43) International Publication Date: 3 September 1998 (03.09.98)	
(21) International Application Number: PCT/US98/04377 (22) International Filing Date: 27 February 1998 (27.02.98) (30) Priority Data: 60/039,419 28 February 1997 (28.02.97) US (63) Related by Continuation (CON) or Continuation-in-Part (CIP) to Earlier Application 60/039,419 (CIP) US Filed on 28 February 1997 (28.02.97) (71) Applicant (for all designated States except US): BURSTEIN LABORATORIES, INC. [US/US]; 33601 Avenida Calita, San Juan Capistrano, CA 92675 (US). (72) Inventor; and (75) Inventor/Applicant (for US only): VIRTANEN, Jorma [US/US]; 5005 Paseo Segovia, Irvine, CA 92612 (US). (74) Agent: HALLUIN, Albert, P.; Howrey & Simon, 1299 Pennsylvania Avenue, N.W., Box 34, Washington, DC 20004-2402 (US).		(81) Designated States: AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, GB, GE, GH, GM, GW, HU, ID, IL, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZW, ARIPO patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Published Without international search report and to be republished upon receipt of that report.	
(54) Title: LABORATORY IN A DISK (57) Abstract <p>An apparatus is described that includes an optical disk, adapted to be read by an optical reader, comprising a first sector having substantially self-contained assay means for localizing an analyte suspected of being in a sample to at least one, predetermined location in the first sector and a second sector containing control means for conducting the assay and analyte location information, with respect to one or more analytes suspected of being in a sample, accessible to the reader, wherein the presence or absence of the analyte at said location is determinable by the reader using the control means and the location information. Depending on the nature of the assay, the disk will include fluid storage means, fluid transfer means, such as one or more capillary ducts, valves, batteries, dialyzers, columns, filters, sources of electric fields, wires or other electrical conductive means such as metallic surface deposits and the like.</p>			

BEST AVAILABLE COPY

(19)日本国特許庁 (J P)

特 許 公 報 (B 2)

(11)特許番号

特許第3356784号

(P 3 3 5 6 7 8 4)

(45)発行日 平成14年12月16日(2002. 12. 16)

(24)登録日 平成14年10月4日(2002. 10. 4)

(51) Int. Cl. ⁷ 識別記号

G01N 35/02

33/483

35/00

37/00

101

F I

G01N 35/02

33/483

35/00

37/00

Z

C

D

101

請求項の数12 (全21頁)

(21)出願番号 特願平10-537958

(86)(22)出願日 平成10年2月27日(1998. 2. 27)

(65)公表番号 特表2000-515632(P 2000-515632A)

(43)公表日 平成12年11月21日(2000. 11. 21)

(86)国際出願番号 P C T / U S 9 8 / 0 4 3 7 7

(87)国際公開番号 W O 9 8 / 3 8 5 1 0

(87)国際公開日 平成10年9月3日(1998. 9. 3)

審査請求日 平成12年1月26日(2000. 1. 26)

(31)優先権主張番号 6 0 / 0 3 9 , 4 1 9

(32)優先日 平成9年2月28日(1997. 2. 28)

(33)優先権主張国 米国 (U S)

(73)特許権者 999999999

バースタイン テクノロジーズ、インコーポレイティド

アメリカ合衆国、カリフォルニア 9261

8、アーバイン、テクノロジー ドライブ 163、スイート 200

(72)発明者 バータネン、ジョーマ

アメリカ合衆国、カリフォルニア 9261

2、アービン、パセオ セゴビア 5005

(74)代理人 999999999

弁理士 石田 敬 (外4名)

審査官 郡山 順

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 光ディスク、及び試料の光学分析を実施するための方法

1

(57)【特許請求の範囲】

【請求項1】 生物学的、化学的又は生化学的な試料の光学分析を実施する際に使用するためのCD-ROM又はDVD読取り装置によって読み取られるように適合された光ディスクであって、該光ディスクは、

前記光ディスク内に形成された単数又は複数のコンパートメントと、

該コンパートメントの少なくとも一つの内部に位置し、かつ、光学分析を行う目的で前記の生物学的、化学的又は生化学的な試料がその上に配置され得る試料支持面と、

前記光ディスク内で前記試料支持面と流動的に連結した状態にある試料入口ポートと、

符号化された情報を含む制御情報部域とを備え、

前記試料支持面及び前記制御情報部域の両方が、前記光

2

ディスクに対して同じ方向に向いており、これによって、前記試料支持面及び前記制御情報部域の両方の光学分析が、同一の前記CD-ROM又はDVD読取り装置によって遂行されることを特徴とする光ディスク。

【請求項2】 前記制御情報部域が、前記試料支持面と光学的に隣り合っており、かつ、前記試料支持面に対して光学的に独立している請求項1記載の光ディスク。

【請求項3】 前記光ディスクが回転している間、分析物を前記試料支持面に保持しておくために前記試料支持面上にアッセイ要素が設けられている請求項1記載の光ディスク。

【請求項4】 前記コンパートメントの他の一つが、流体毛管を通して前記コンパートメントの少なくとも一つに接続される廃棄物コンパートメントであり、該廃棄物コンパートメントは、通気用毛管を通して前記光ディスク

10

の外部に接続されており、前記流体毛管は親水性であり、前記通気用毛管は疎水性である請求項1記載の光ディスク。

【請求項5】前記光ディスクが、前記試料支持面に結合される生物学的、化学的又は生化学的な材料を含んでいる請求項1、2または4記載の光ディスク。

【請求項6】前記光ディスクが、該光ディスクの表面全体にわたってCD-ROM又はDVD読取り装置を走査することにより読み取られるように適合されており、前記光ディスクは、さらに、該光ディスク内で前記コンパートメントの中の一つまたは複数のコンパートメントを含む該光ディスクの第1の透明部域を備え、これによって、試料の少なくとも一部が、前記CD-ROM又はDVD読取り装置によって走査されることが可能であり、また一方で、前記制御情報部域が、前記光ディスクの表面側から読み取られることが可能であり、これによって、前記CD-ROM又はDVD読取り装置は、前記試料の一部及びソフトウェアの両方を走査することが可能である請求項1記載の光ディスク。

【請求項7】前記第1の透明部域が、さらに、前記光ディスク内に設けられた反応コンパートメントを含み、該反応コンパートメントにて前記試料の分析物のアッセイが遂行され、

前記光ディスク内で、試料受容面を有する前記コンパートメントの少なくとも一つと前記反応コンパートメントとの間に毛管ダクトが設けられる請求項6記載の光ディスク。

【請求項8】前記第1の透明部域が、さらに、廃棄物コンパートメントと、前記試料の廃棄物を受け取るダクトとを含み、該廃棄物コンパートメント及び該ダクトは、前記光ディスク内に設けられ、

前記廃棄物コンパートメントから前記光ディスクの外部への通気を可能にし、また一方で、前記廃棄物コンパートメントから空気毛管を通過する液体の流れを抑制するために、疎水性の前記空気毛管と、前記光ディスクの外側に向かう開口とが、前記光ディスク内に設けられる請求項6記載の光ディスク。

【請求項9】前記試料入口ポートが密封可能である請求項6から8のいずれか一項に記載の光ディスク。

【請求項10】CD-ROM又はDVD読取り装置によって読み取られるように適合された光ディスクを使用して生物学的、化学的又は生化学的な試料の光学分析を実施するための方法であって、

試料入口ポートを通して、前記光ディスクの内部に形成されたコンパートメント内に前記試料を案内するステップと、

CD-ROM又はDVD読取り装置を用いて、前記光ディスク内で符号化された制御情報を読み取るステップと、

前記CD-ROM又はDVD読取り装置、及び、該CD-ROM又はDVDによって前記光ディスクから読み取られた前記制御情報

報を用いて、前記コンパートメント内の前記試料の光学分析を実施するステップとを有することを特徴とする、試料の光学分析を実施するための方法。

【請求項11】前記制御情報が、前記コンパートメントに対して光学的に独立している部域に設けられ、前記試料の前記光学分析が、前記制御情報の読み取りの結果に基づいて順次遂行される請求項10記載の方法。

【請求項12】前記光ディスクが、各々が該光ディスクの内部に形成される複数のコンパートメントと、複数の制御情報部域とを備え、

前記複数のコンパートメント及び前記複数の制御情報部域が、前記光ディスクにおいて交互に現れ、

前記の光学分析を実施するステップが、前記複数のコンパートメント内に案内された複数の生物学的、化学的又は生化学的な試料の順次的な走査と、前記複数の制御情報部域内に位置する符号化された情報の順次的な走査とを含む請求項11記載の方法。

【発明の詳細な説明】

発明の分野

本発明は一般に、試料の分析を行うための診断用アッセイ (assay)、及びそのための方法に関する。特に、本発明は、コンパクト光ディスク上に形成された診断用アッセイコンポーネント、及びそれを使用するための方法に関する。

背景

臨床アッセイの実施を比較的迅速かつ安価そして簡単にする多大な必要性が存在している。理想的には、患者は、もし望むならば、自分自身を試験することができるようにすべきである。このような最終目的に向かう一つの方法は、さまざまな分析作業の小型化及び統合を通して実施されるものである。現在、数多くのバイオチップアッセイ (その一部がシリコンチップフォトリソグラフィ技術を用いて構築されることから、このように呼ばれている) が市販されているか又は開発中である。これらのアプローチは全て、読み取り用機械及びコンピュータを必要とする。

紫外線/可視光線 (UV/Vis) 分光光度法と合わせて臨床アッセイのために使用されるディスク形状のカセットも同様に市販されている。米国特許第5,122,284号は、相互に連結されかつ複数のキュベット (cuvettes) に連結された一定数の流体チャンバを内含する遠心分離ローターについて記述している。このローターは、従来の実験室遠心分離機と共に利用されるように適合され、反応キュベットの中で実施されたアッセイの結果の分光光度法による検出を可能にする材料で形成されている。同じタイプ又は類似のタイプの分析のための数多くのローター構成及び関連装置がこれまでに記述されてきた。例えば、米国特許第5,472,603号、5,173,193号、5,061,381号、5,304,348号、5,518,930号、5,457,053号、5,409,665号、5,160,702号、5,173,262号、5,409,665号、5,59

1,643号、5,186,844号、5,122,284号、及び5,242,606号、ならびにその中に列挙されている特許を参照されたい。このようなシステムの中で使用するための凍結乾燥された試薬 (reagent) が、米国特許第5,413,732号の中で記述されている。

遠心分離分析器の原理は、CD装置のような計器の中で使用することが可能なディスクの形に適合されてきた (ミアン他 (Mian, et al.)、W097/21090出願)。ミアンは、2つの機能を有する修正型のCD装置を教示している。1番目の機能は、ディスク内に記憶された情報を読み取るのに使用され、2番目の機能は、ディスクを回転させるために使用される。しかしながら、ミアンは、実際のアッセイ分析のためにCD装置の読取り能力を利用することを教示していない。

近年の進歩にもかかわらず、アッセイを迅速に、効率良く、正確にそして低コストで実施するような、さらに単純なアッセイ構成に対する必要性がなおも存在している。本発明は、診断用アッセイをコンピュータ及びコンパクトディスク技術と結びつけている。その最も好ましい実施形態においては、コンパクトディスク読取り装置を備えたコンピュータが、必要とされる唯一の計器である。集積バイオコンパクトディスク (integrated bio-compact disk: IBCD) と呼ぶことのできる1枚のコンパクトディスクの内部で全ての化学が遂行される。同じコンパクトディスクには同様に、ソフトウェア、すなわち、アッセイに先行してかつアッセイの間中及びアッセイの後でコンピュータに命令を与えるような機械読取り可能な命令及び制御情報が符号化されている。

CD又はDVDは、最も経済的でかつ多くの点で最良の情報記憶媒体を代表するものである。CD及びDVDという用語は、現在使用されている頭字語であるにすぎず、基礎をなす技術が基本的に同じであったとしても、将来的には変更される可能性があることに注意しなければならない。CD又はDVD装置は、幾つかの点で走査用共焦点顕微鏡と同等である。と同時に、市販のディスク装置においては回転周波数は200~12000rpmであり或る一定の限界内で調整できることから、これらのCD又はDVD装置のような計器は、優れた遠心分離機にも匹敵する。これらの3つの特長を同じ分析システムに組み合わせると、その結果、他のあらゆる分析技術と比較して多大な単純化が実現されることになる。それでも、上記の計器の性能は、大部分の競合する方法に匹敵するものであるか又はそれ以上である。本発明は、わずかに改良されたCD又はDVD装置を必要とするものの、このような改良に伴う変更を市販のディスク装置に組み込むことも可能である。こうして、本発明は、患者治療拠点 (point-of-patient-care (POPC)) や家庭向けに使用することが可能となっている。CD又はDVD装置を使用することによって、いかなる特定の分析用器具も必要とせずあらゆる試料の正確なデジタル分析を行うことができるであろう。

発明の要約

一つの形態において、本発明は、第1セクタ内の少なくとも一つの予め定められた場所に対し、試料中に存在すると推測される分析物を結合させるための実質的に完全独立型のアッセイ手段 (分析手段: assay means) を有する第1のセクタと、任意には、読取り装置がアクセス可能な試料中に存在すると推測される単数又は複数の分析物に関するアッセイを実施するための制御手段及び分析物場所情報を収納している第2のセクタとを含んでなり、光学読取り装置によって読み取られるように適合された光ディスクであって、上記の場所における上記分析物の有無が、上記制御手段及び上記場所情報を用いて上記読取り装置により決定可能であるような光ディスクに向けられている。アッセイの性質に応じて、上記ディスクは、流体貯蔵手段や、流体移送手段、例えば単数又は複数の毛管ダクトや、バルブや、バッテリーや、透析装置や、カラムや、フィルタや、電界の発生源や、配線部又はその他の導電性手段例えば金属製の表面被着物などを内含することができる。

ディスクは、アッセイセクタに試料流体を送り出すための単数又は複数の試料入口ポートを有することが可能である。このようなポートが存在する場合、上記ポートは、好ましくは、ディスクへの試料の適用後、試料を内含しかつ密封されたディスクが、生物学的廃棄物を処理するための従来の手段又はその他の処分機構によって適宜処分され得る密閉デバイスを内含するような形で密封可能である。同様に、ディスクのアッセイセクタは、試料調製及び分析物分離のために種々のサブセクションに適切に分割される。廃棄物レセプタクルサブセクションも適切に具備され得る。アッセイセクタは、各々が一つの試料を収容する多数のサブセクタへと分割され得る。このようなサブセクタの各々は、考慮中の特定の利用分野に応じて単数又は複数の分析物について分析することができる。

他の形態において、本発明は、光ディスク、ディスク読取り装置及び情報プロセッサを有し、アッセイを実施するための装置において、上記ディスクが、第1セクタ内の少なくとも一つの予め定められた場所に対し、試料中に存在すると推測される分析物を局在化させるための実質的に完全独立型のアッセイ手段を有する第1のセクタと、任意には、読取り装置がアクセス可能でかつ情報プロセッサが処理可能であるような、試料中に存在すると推測される単数又は複数の分析物に関するアッセイを実施するための制御情報及び分析物場所情報を収納している第2のセクタとを含んでなり、上記ディスクが読取り装置により読み取られるように適合され、かつ、上記の情報プロセッサが上記制御情報及び上記場所情報を用いて上記の場所における上記分析物の有無を決定するように適合されている装置に向けられている。この装置は、CD-ROM又はDVD読取り装置を有する読取り装置、及

びパーソナルコンピュータといったような情報プロセッサを内含することが可能である。

さらに他の形態において、本発明は、光ディスク上の少なくとも一つの予め定められた場所に対し、試料中に存在すると推測される分析物を局在化させるための上記ディスク内の実質的に完全独立型のアッセイ手段と、CD-ROM又はDVD読取り装置により上記分析物の有無を検出するために上記の場所にある手段とを含んでなり、上記のCD-ROM又はDVD読取り装置により読み取られるように適合された光ディスクに向けられている。

図面の簡単な説明

図1は、本発明のディスクを概略的に表示する図である。

図2Aは、標準的アッセイセクタの全体的配置を示す図であって、ディスクの試料調製及びアッセイセクタのより詳細を概略的に表示する図である。

図2Bは、免疫アッセイ (immunoassays)、DNA試験、細胞計数、分光光度測定アッセイ及び電解質分析を遂行することのできる遍在性アッセイセクタを概略的に表示する図である。

図3は、各々が個々の試料入口ポートを有する多数のアッセイセクタを例示するような本発明のディスクを概略的に表示する図である。

図4は、図3に例示されたアッセイセクタの一つのより詳細を概略的に表示する図である。

図5は、本発明において有用な化学的に動作するバッテリーを概略的に表示する図である。

図6は、本発明のディスク内で透析機能を提供するための構造を概略的に表示する図である。

図7は、本発明のディスクの中に内含され得るカラムを概略的に表示する図である。

図8は、本発明において有用な電気制御式バルブを概略的に表示する図である。

図9は、本発明において有用である接合された毛管ダクトの形で構成された試薬トレーン (reagent train) を概略的に表示する図である。

図10は、本発明のディスクのアッセイセクタ内のフローチャンネル内に適切に位置設定されている線形アッセイ部のアレイを概略的に表示する図である。

図11A~11Cは、検出されるべき物質の位置に関する特異的局在化の一般的方法を用いた、ウイルス及び細菌の粒子及び細胞の検出にとって特に有用なアッセイ要素の一変形形態を概略的に表示する図である。

図12A~12Cは、反射粒子の代りに不透明な粒子が利用され、かつ、この不透明な粒子が反射面に結合されるような検出方法の一変形形態を概略的に表示する図である。ここでは、ジグザグ線はオリゴヌクレオチド (oligonucleotides) を表すが、抗体といったようなあらゆる認識分子であり得る。粒子は、この例においてはプラスチック球であるが、リボソームや細胞等である可能性が

ある。

図13は、一方の縁部でディスク表面に結合させられ、かつ、他方の端部でリポータ要素 (金又はラテックス球) に結合させられた成分の側枝及び分割部位を伴うスパーサ分子を例示するような本発明のアッセイ要素を概略的に表示する図である。

図14Aは、アッセイ手順中の早期段階における本発明の第1のアッセイ要素を概略的に表示する図である。

図14Bは、アッセイ手順中の早期段階における本発明の第2のアッセイ要素を概略的に表示する図である。

図14Cは、分析物分子が、側枝を結合させて分割部位の側面間に結合ループを形成している、図14A中のアッセイ要素を概略的に表示する図である。

図14Dは、分析物分子が側枝に結合せず、いかなる結合ループも分割部位の側面間に形成されていない、図14B中のアッセイ要素を概略的に表示する図である。

図14Eは、スパーサ分子が分割された後の図14C中のアッセイ要素を概略的に表示する図である。リポータ要素は、個別部位においてディスク表面に付着した状態にとどまっている。

図14Fは、スパーサ分子が分割された後の図14D中のアッセイ要素を概略的に表示する図である。リポータ要素は、ディスク表面から離脱され、その個別部位から自由に洗浄除去される。

図15A及び図15Bは、キュベットアセンブリを概略的に表示する図である。4つのキュベット及びそれに付随する試薬及び試料調製チャンバならびに光源が、この例において示されている。

図16は、等電集束 (isoelectric focusing) を遂行するために使用することが可能な毛管アレイを概略的に表示する図である。

図17は、正確な量を測定するための装置を概略的に表示する図である。

発明の詳細な説明

集積バイオコンパクトディスク (IBCD) の概略的な全体的表示は、図1に示されている。このディスク (バイオコンパクトディスク:BCD) は、実質的にはあらゆる形状及びサイズのものであってよい。大部分の実用的利用分野について、上記のディスクは、10~1000mmの直径、最も好ましくは20~200mmの直径と、0.1~20mmの厚さ、最も好ましくは0.5~3mmの厚さを有する円形のものである。ディスク10は2つのセクタ、すなわち、アッセイセクタ11及びソフトウェアセクタ12を含有する。コンパクトディスク読取り装置内で場所を設定するために、中央穴13が形成されている。アッセイを制御するためのソフトウェアは、別のディスク上にあってもよい。しかしながら、アッセイを遂行している期間中における人為的エラーの機会を最小限に抑えるために、単数又は複数の特定の分析物についてアッセイと結びつけられたディスク上にソフトウェアを有することが好ましい。IBCDの考え

9
られ得るコンポーネント及びユニット作業については以下の説明の中で紹介される。

ディスクは標準的に、従来のCD-ROM又はDVD読取り装置の中で最高16000rpmで回転する。全てのCD-ROM及びDVD読取り装置において、速度は、一定の限界(200~16000rpm)内で調整可能である。しかしながら、幾つかの作業については、例えば1000~10000rpm、最も好ましくは2000~5000rpmといったような異なる速度での回転を利用することが有利である可能性がある。いずれかの特定のアクセシビリティについて、制御用ソフトウェアは、分析中の回転型(rotation regimen)を規定する。インキュベーション(incubation)や、電気泳動や、等電集束などを可能にするべくおそらくいかなる回転も起こらない時間を含めた上記回転型、すなわち速度及びタイミングは、アクセシビリティプロトコルにより規定されるとおりにアクセシビリティセクタ上の適切な部位に試薬及び試料を送り出すべく制御されている。利用可能な回転速度はまさに、液体を移動させるのに用いることのできる大きな遠心力を可能にする。IBCDにおいて容易に使用可能なもう一つのエネルギー源は、化学エネルギーである。最も適した形の化学エネルギーは、電気エネルギーの形でバッテリーによって放出される。機械的及び化学的エネルギーは、数多くの種類のコンポーネントの動作を可能にする。IBCDの重要なコンポーネントとしては、毛管や、コンテナや、フィルタや、透析膜や、クロマトグラフィカラム(chromatographic columns)や、電気泳動ゲルや、バルブや、マイクロプロセッサ、電子コンポーネント、電極、特に酵素電極、キューベット及びアクセシビリティ要素を有する任意のマイクロメカニカルコンポーネント又は電子コンポーネントのうちの単数又は複数のものが含まれると30考えられる。このコンポーネントにより実施されると考えられるユニット作業としては、遠心分離、ろ過、液体移送、液体混合、透析、カラム分離、加熱、冷却、電気対流、電気泳動、及び分析物検出、ならびにそれらに関連した信号伝達が含まれる。

IBCDは、上半分及び下半分を含む2つの部品により適切に作製されている。下半分は、ほぼ全てのコンポーネントを収納することができ、また一方で、上半分は、電極及び配線部といったようなわずかなコンポーネントのみを収納する平坦なカバーであってよい。本発明における層の数は、2つ以上あってよく、数多くのコンポーネントをモジュールとして予備作製することも可能である。特に、試薬コンテナ、キューベットアセンブリ、カラム、マイクロメカニカルコンポーネント、光源、及びマイクロプロセッサは、好ましくはモジュールとして組み立てられる。軟質プラスチック上には、種々の機能をプリントすることができる。種々のコンポーネントを、熱又は紫外線(IV)のいずれかによる硬化によって接着させるかもしくは融合させるか、相補的な機械的特長を利用して連結させるか、機械的に締め付ける

か、又は、単純により大きい方のコンポーネントの内側に閉じ込めることができる。一部の領域に親水性を与えるために、かかる領域を例えばアンモニアプラズマで処理することも可能である。表面は、この表面を不活性にするか又は代替的には上記表面に特定の吸着特性を与えるような種々の分子によって、さらに処理することができる。

表面処理のためにはシリル化が一般的な方法である(バータネン、ジェイ、エー、キヌネン、ピー、ケー、ジェイ、及びクロウ、エー、(Virtanen, J. A., Kinnunen, P. K. J. and Kulo, A.)による「クロマトグラフィ及びエレクトロニクスで使用するための表面処理剤としてのオルガノシラン及びその加水分解重合体」、USP4,756,971号)。洗剤の共有結合による付着は、アルブミンといったようなタンパク質の吸着を低減させると共に、可溶性タンパク質の吸着も低減させることになる。金属電極及び配線部を望ましい領域上に蒸着させることが可能である。プラズマ処理又は金属被着物を局在化させるために、マスク又はレジストを使用することが可能である。毛管ダクト及び流体貯蔵手段及び保持用コンパートメントは、光ディスク内に機械加工するか、又は化学的手段により形成するか、又は射出成形作業により形成してもよい。図2A及び図2Bを参照すると示されているように、アクセシビリティセクタは、試料入口ポート14を含んでいてよい。試料ポートは好ましくは、あらゆる生物学的危険から保護するべく流体の流れを可能にするための必要な通気を除いて、ディスクが有効に密封されるような形で密封可能である。さまざまな手段、例えば当該技術分野において周知のものである遠心力及びそれと同様の手段により、試料の一部分は、アクセシビリティを行う目的で試薬等を収納し得る試料調製部15へと計量しながら供給される。代替的に、又は既に試料調製セグメント内にある試薬と合わせて、試料調製セグメントに適切な順序で必要な試薬を必要に応じて送り出すために、試薬トレーン16を備えることも可能である。

この試薬トレーンについての付加的な詳細は、図9に示されている。試料から分析物を少なくとも部分的に分離することが必要となるかもし、このような分離プロセスは、全体として17という番号で表された試料分離セグメント(試料分離部)内で行うことができる。分離プロセスのために電気エネルギーが必要とされる場合に備えて、バッテリー18が具備される。バッテリーの付加的な詳細は図5に示され、以下で記述されている。結果として得られる試料は、さらに、アクセシビリティ部19に移送される。本発明の好ましい実施形態において、アクセシビリティ部は、以下でさらに詳述するようなアクセシビリティ要素を含んでいる。分析物は、それが試料内に存在する場合、ディスク上の予め定められた場所に結合し、分析物の存在は、それが結合されている場所と共に特定の分析物を識別する情報に基づいて、読取り装置により検出される。アッ

セイ内で使用するために計量供給された量を上回る試薬又は試料のオーバーフローを収集するため、廃棄物コンパートメントが具備され、さまざまなコンパートメント及び流体移送チャネルは、アッセイセクタの表面全体を通しての流体の流れを可能にするべく適切に通気されている。

本発明の一実施形態においては、図3に示されているように、それぞれ個々の試料入口ポート24、25および26に各々連結された多数のアッセイセクタ21、22および23を具備することができる。各セクタの動作は、実質的に上述したとおりであるが、数多くの分析物又は数多くの患者のいずれかについて個々のセクタ内で同時に異なるアッセイを行うことが可能である。特定のセクタの詳細は、図4にさらに詳しく示されており、この図では、上述の説明で使用されているものと同じ番号により、考えられ得る種々のコンポーネントが識別されている。コンポーネント

図5に示されているように、それぞれ下部半分及び上部半分の中にある銅と亜鉛といったような2つの金属層で単純に構成されているバッテリーを具備することが可能である。ディスク内に貯蔵されている間、これらの層は空気により分離されている。ディスクが回転すると、これら2つの金属間の空間は、金属電極の性質に応じて希硫酸で満たされる。金属電極が銅及び亜鉛からなる場合、この希硫酸は、銅イオンを含有する希硫酸であってよく、バッテリーは動作を開始する。このバッテリーは、約1時間だけ、1.5Vの電圧を生成する。しかしながら、これは分析を完了するには充分すぎる程度の時間である。必要な場合には、その他の材料又はより厚い金属層から、より長寿命のバッテリーを作製することができる。重要なことに、金属層間の空間の中に水を流入させることにより、バッテリーは動作を停止する。動作開始と停止のサイクルは、数回くり返すことができる。必要とあらば、電位を高くするため、幾つかのバッテリーを直列に連結することもできる。任意には、フォトダイオードを回路内に内含させることができる。この場合、アッセイを制御するコンピュータには、活性状態にある回路についての情報が提供される。同様に、塩、例えば塩化ナトリウムの溶液で電気回路を閉じることにより、小型化され予め製造されたバッテリーを利用し動作させることが可能である。

液体及び空気を移送するために、好ましくは毛管が使用される。同様に、毛管内にはきわめて少量の液体を貯えることができる。好ましくは、空気毛管は疎水性であり、一方、水と接触する毛管は、親水性である。必要に応じて、毛管は円形又は矩形の横断面を有することが可能である。標準的な深さは10 μ m～500 μ mの間であり、また一方で、幅は50 μ m～2mmの間にある。空気毛管は、別途希望される場合を除き、圧力勾配の形成をことごとく防止するべくより大きな寸法を利用する。流れ

の速度は、IBCDの回転の周波数と、毛管の寸法と、液体の粘度及び密度とによって左右される。液体の物理的特性は、アッセイにより決定され、回転周波数は、CD-ROM又はDVD読取り装置により或る程度制限される。かくして、液体移送速度を調製するために毛管の寸法が用いられる。毛管ダクト構造には、必要に応じて液体の速度を制御するために、「ボトルネック (bottle necks)」、すなわち、毛管の横断面積の制限が具備されていてよい。同じ目的で、親水性及び疎水性を使用することもできる。

毛管網及びチャンバの正確な寸法は、下記のナビエ・ストークス (Navier-Stokes) の方程式を用いることにより設計することができる。すなわち、

$$\rho \mathbf{v} = \rho \mathbf{b} - \nabla p + \mu \nabla^2 \mathbf{v}$$

なお式中、 ρ は密度、 p は圧力、 \mathbf{v} は速度、 \mathbf{b} は体力場 (body force field)、 μ は粘度、そして ∇ は微分演算子である (メイズ (Mase) : 連続体の力学 (Continuum Mechanics) : マグローヒル (McGraw-Hill)、1970)。圧力はスカラー場であり、また一方で、 \mathbf{v} と \mathbf{b} はベクトル場である。複雑な幾何形状においてナビエ・ストークスの方程式を解決するための市販のコンピュータソフトウェアが利用可能である。

ディスク内に形成されたコンテナ又はコンパートメントは、試料入力のため、試薬を貯蔵し、反応を遂行し、廃棄物を収集するのに用いられる。その深さは約1～2000 μ m、好ましくは約10～800 μ mであり、可能なあらゆる形状を持つことができるが、円形又は矩形横断面が好ましい。コンパートメントは、疎水性の空気毛管を持つ廃棄物コンテナの片端部を除き、親水性である。反応コンパートメントは、加熱、電気対流又は電気化学的目的のための電極と共に形成することができる。電極は、好ましくは、蒸着された金フィルムである。コンパートメントは同様に、以下で説明するように電気で又は化学的に動作させられるバルブを有することもできる。貯蔵コンテナは、プラスチック内への水の侵入を防ぐため、金属コーティング、好ましくは金コーティングが施されていてよい。試薬を、事実上不浸透性のカセットの中に予め詰め込むこともできる。これらのカセットは、貯蔵中閉鎖されており、試料カセットがディスク内の所定の場所にあるとき、穿刺によるか、又は、バルブもしくはプラグを開放することによって手で開放することができる。カセットの開放は同様に、IBCDが回転し始めるときの遠心力によって容易にすることができる。いずれの場合でも、アッセイの間中、CD又はCVD読取り装置を介してコンピュータ制御により、適切な液体の流れが維持される。

アッセイ中の液体の流れは、反射要素を用いることで監視できる。反射要素は、CD又はDVD読取り装置の中にあるレーザーや、液体が透明であるときでさえその反射指数が空気のものとは著しく異なるという事実を利用して

いる。かくして、レーザー光は、空気の存在下では、CD又はDVD読取り装置へ戻るように反射され、そして液体の存在下では、その他の方向に反射される。また一方で、レーザー光の反射の方向が、これとは逆になる場合もあり得る。液体の流れを監視するもう一つの方法は、LED又は半導体レーザといったような活性状態の光源を使用することにある。このような光は、電子回路を閉じるように作用する血漿又は緩衝液といったような導電性液体の存在によって動力供給され得る。

IBCDからCD又はDVD装置及びコンピュータまで情報を伝送するために、LC表示装置を使用することが可能である。LC表示装置は、LCフィルム上に電位が存在するときに光を反射する多数の画素を有することができる。これらの画素は、例えば一次元的に構成され、かくして一つの端部では、光の反射のため低い電位が必要とされ、また一方で、もう一つの端部では、電位は同じ結果を得るためはるかに高いものでなくてはならない。CD又はDVD装置は、反射画素を局在化させることができ、したがって回路内の電位を測定することが可能である。電位変化は、電気化学セルの一つにおける電気化学プロセスに起因する可能性がある。例えば、コレステロールオキシターゼ (cholesterol oxidase) でもってコーティングされた電極は、コレステロールの存在下で過酸化水素を発生することになる。過酸化水素は、回路の電位を変更し、コレステロールを計量することが可能である。

可溶性試料から細胞や塵埃等の大きな粒子を除去するのにフィルタを使用することが可能である。したがって、最も好ましくは、フィルタを試料入口コンパートメントの一部として内含させる。フィルタは、多孔質プラスチック、ガラス、架橋綿、又はセルロースなどで形成することが可能である。これらの材料は、それらが使用される特定の用途に応じて、ロッド形状又は類似の形状をしている。テフロンといったようなプラスチックをフィルムとして使用することも可能である。

試料調製中オリゴヌクレオチドを変性させるために往々にしてカオトロピック剤 (chaotropic agents) が使用されることから、アッセイが遂行される前に塩を除去するためディスク内に透析手段を具備することが有利である。図6に示されているように、ディスク10内に形成されたコンパートメントの2つの半分 (上部半分及び下部半分) のいずれか一方又はその両方の上に透析膜27を置くことによって、透析ユニットが用意される。容積が小さいことを考えると、既に透析膜内部にある緩衝液で通常は充分であり、標準的には、膜において流体層とは反対の側に位置する部分ではいかなる緩衝液も必要とされない。

望ましいゲル、吸着剤、又はイオン交換体、例えばシリカゲルやセファデックス (Sephadex) 等 (その使用目的である特定の利用分野のために特定の材料が選ばれる) でもってコンパートメント28を充填し、もう一方の

端部にフィルタ29を設置することにより、図7に示されているようなカラムを用意することができる。考えられ得る用途例としては、比較的小さい分子を比較的大きい分子から分離すること、及び親水性化合物と疎水性化合物とを分別することが含まれる。核酸をその他の生体分子から分離するためには、イオン交換カラムが特に有用である。カラムは、いずれかの特定のアッセイを行うのに便利であるか又は必要であり得るその他の用途にも役立つ。

図8は、全体として30という番号で示され、2つの出口毛管31及び32を有するカラム又は反応コンテナの片端に位置設定され得るバルブを例示している。さらに、当初、例示されている位置で装着されない2つの電極33及び34、及び、各々の毛管との関係におけるその位置に応じて一方又は他方の毛管を閉じるようになっている導電性の金属はく35が存在する。この金属はくは、いかなる電流も流れていないときに毛管の一方を閉じるように偏向され、電流が流れているときに以前閉じられていた毛管を開きもう一方の毛管を閉じるように動作する。一例として、バルブは、もう一つの出口毛管に対して機械的に押しつけられ最も近い電極に電気的に接続される薄い金ばくから作られている。バッテリーが動作を開始した時点で、金ばくは最も近い電極によりはね返され、もう一方の電極により引きつけられる。この結果、金ばくはその他の出口に対し押しつけられる。その他の導電性金属はくを使用することもできるが、大部分の作業にとって、導電性でかつ腐食性の無い金属が好まれる。バッテリーは、以前に説明したとおりに動作を停止することができ、このときバルブはそのもとの位置に切り換えられる。

CD-R又はCD-RW装置のレーザーは、物体を600℃に至るほどの高温にまで加熱できるような最高10mwのパワーをもつ。このパワーは、プラスチックを含む幾つかの材料の中に穴をあけるのに充分強いものである。プラスチックは、レーザー光を吸収する染料を含有しているべきである。可逆的バルブ調節のために熱膨張を使用することができる。例えば、バイメタルはくの曲げは、温度に対する非常に高い感応性をもつ。

圧電材料をバルブとして用いることもできる。きわめて少量の液体を測定するために圧電気を使用することもでき、例えば、異なるアッセイ間でナノリットル単位の試料を分割することもできる。

固体化学化合物の溶液からの析出及び/又は析出された固体化合物の溶解により、バルブのような動作を化学的に実施することも可能である。このようなバルブの第1の出口は、毛管の内側の化学化合物の析出により閉じられる。化合物は例えば、塩化銀であってよい。塩化物イオンは主要な流体の流れの中にあり得るのに対し、別の側方毛管の中には純水及び水中の硝酸銀がある。この側方毛管は、まずは水がそして次に硝酸銀が、塩化物を

含有する主要な流体の流れに添加されるような形で構成されている。銀イオンが交差部に到達した瞬間、交差部は詰まり、閉鎖したバルブとして有効に作用する。代替的には、塩化ナトリウムといった固体形態の可溶性化合物によって最初に毛管を詰まらせることができる。あらゆる水溶液の添加によって塩化ナトリウムの詰まりは溶解させられ、毛管は開放される。

アッセイ要素は、好ましくは、本発明のアッセイ部内で利用される。簡単に言うと、アッセイ要素 (図13) は、一方の端部60でディスク表面59に共有結合で付着され、かつ、もう一方の端部62でリポータ要素65に共有結合で付着された分割可能なスペーサ61を内含する。本願明細書で記述されているリポータ要素の好ましい実施形態には、反射性金球又は不透明なラテックス球が含まれている。同様に、以下側枝と呼ぶ2つの認識要素63a、63bも内含され、これらの側枝は、一方の側枝がスペーサの分割部位64の各々の側に連結される形で、各々のスペーサに共有結合により付着させられている。本願明細書で記述されている側枝の好ましい実施形態には、オリゴヌクレオチド、抗体、及びオリゴヌクレオチド-抗体間の接合体が含まれる。アッセイ要素は、分析物の存在を検出し、正又は負の認識事象のいずれかを通して関連する信号を生成するために使用できる (図14A~図14F)。

分析物66が両方の側枝63a、63bに結合し、その結果として、分割部位64により二分された2つの側面の間に結合ループ67が完成するとき、正の認識事象 (図14A、14C及び14E) が発生する。分析物66が側枝68a、68bのうちの一方のみに結合するか又はいずれにも結合せず、その結果として、スペーサの両側を連結するループが全く形成されない場合に、負の認識事象 (図14B、14D及び14F) が発生する。正の認識事象の後にスペーサの分割が続く場合、ディスクからリポータ要素までの破断のない連結は無傷の状態にとどまっている (図14E)。また一方で、負の認識事象に続くアッセイ要素内のスペーサの分割の結果、リポータ要素はディスクから切り離されることになる (図14F)。かくして、負の認識は、結果として、容易に洗い流される緩い結合状態のリポータ要素をもたらす。また一方で、正の認識は、リポータ要素がその個別のアッセイセクタ内に保持されるという結果をもたらす。いずれの場合でも、上記の結果はCD-ROM又はDVD読取り装置によって直ちに観察され得る。

考えられ得る広い範囲のアッセイを遂行するために、反射性又は不透明なリポータ分子と、正及び/又は負の認識事象との両方を利用する、本発明のさらなる実施形態が本願明細書で記述されている。例えば、幾つかのアッセイでは、試料が添加される前に側枝を連結させることができ、分析物の結合が側鎖を切り離すように作用する。この場合、正の認識事象は、結果とをしてリポータ要素の消滅をもたらす。また一方で、負の認識事象はリポータ要素が保持されるという結果をもたらす。

本願明細書で記述されているアッセイ要素のその他の考えられる実施形態は、側枝を伴う分割可能なスペーサを内含しない。このような代替的スキームの一つにおいては、IBCDの表面は金属、好ましくは金によりコーティングされ、分析物は、ラテックス溶球、又は染料が添加されたリポソーム (liposomes) といったような不透明な粒子を金属表面上に連結する。

アッセイ要素としての不透明球

前出のアッセイ要素は、IBCDの透明な表面に対する反射性粒子の結合に基づいているが、不透明な粒子を反射表面に結合させるように、状況を逆転させることも可能である。このアプローチは、大きな細胞についてのアッセイを行う場合に特に有利であり、一般的に図12A~図12Cに例示されている。

金属フィルムはプラスチック表面上に被着される。情報は、従来のCDにおいて行われているとおり、この金属フィルムからなる金属層の中に符号化させることができる。この情報は、そのアッセイに関する空間アドレス又はその他の情報を含んでよい。金属層はさらにプラスチック層により被覆されている。この金属層は、次に前述のとおり活性化され、金球の代わりに、染料を含有する大きなラテックス球58 (直径10~50 μ m) が、前述のとおりスペーサ分子を介して基板に付着している。これらのラテックス球は、金球について前述したような認識分子を用いて部分的にコーティングされる。細胞認識により、スペーサが分割された後でさえラテックス球が基板に結合され、球内の染料は金属層からのレーザー光の反射を防ぐ。代替的には、適切な蛍光染料及びレーザー光波長が使用された場合、球の蛍光放射を利用してアッセイを監視することが可能である。これは、専門化された計器を必要とし、青色レーザーがCD-ROM又はDVD読取り装置内で使用可能になった時点でこのレーザーによって容易なものとなる。

細胞検出アッセイの最も単純なバージョンにおいては、ラテックス球は、アッセイ前にIBCDと連結されており、細胞がIBCDに結合させられた後に添加される。ラテックス球懸濁液が添加され、球上の認識分子は適切な細胞に結合し、これらの細胞は不動化される。これらのラテックス球はこのとき、CD-ROM又はDVD読取り装置を用いて反射率の低下により観察可能である。

スペーサの相補的結合

スペーサの共有結合のもう一つの欠点は、スペーサが分割された後にディスクが容易に再生されないということにある。スペーサが代りに相補的オリゴヌクレオチドと共に基板に連結された場合、アッセイが完了した時点でディスクを再生させることができる。スペーサ又はその残渣は、加熱又はカオトロピック剤の使用によって除去される。スペーサを結合させる二本鎖DNA分子は変性され、ディスクは洗浄され得る。ディスクは、古いスペーサを結合していたオリゴヌクレオチドを保持する。

つのアッセイ部上の全てのオリゴヌクレオチドが同一である。これらは、異なるアッセイ部で異なるものであってよく、又、IBCD全体上で同一であってもよい。IBCD上で古いスぺーサに相補的なオリゴヌクレオチドを有する新しいスぺーサが付加される。インキュベーションの後、スぺーサ及びIBCDの相補的オリゴヌクレオチドがハイブリダイズ (hybridize) する。過剰なスぺーサは洗い流される。この場合、オリゴヌクレオチド側枝は、スぺーサが表面に付着する前にスぺーサに付着され得る。次に金球が添加され、これらはスぺーサのチオール基又はジスルフィド架橋 (disulfide bridges) により結合され、ディスクは再び使用可能な状態となる。

紫外線/可視光線分光光度アッセイ、蛍光アッセイ、又は化学ルミネセンスアッセイのために、キュベットが使用される。BCD内のキュベットは、基本的に、光源と光検出器との間に位置設定された毛管である。光は、ミラー及び導波管によって誘導され得る。BCD内のキュベットの数は、アッセイセクタあたり0~10000個まで変動し、最も好ましくは、0~50個である。試料は、試料調製チャンバを介して大部分のキュベット内に到着する。これらのチャンバは、予め装着された試薬を収納することができる。そうでなければ試薬を別々のチャンバ内に貯蔵して、試料調製チャンバ内に到達する間に試料と混合させる。試料と試薬は、フォトダイオードによって生成される赤外線により電氣的に加熱され得る。インキュベーションの期間の後、試料は、キュベット内に移される。透過光又は放射光は、光検出器によって測定される。本発明において、フォトダイオードは、最も好ましくはCD又はDVD装置内部にある。

分光光度アッセイのための光源は、最も好ましくは、フォトダイオード又は半導体レーザーである。CD又はDVD装置の光源を使用することが可能である。しかしながら、現在これらの計器は、赤外線又は赤色光に対応する一つの波長のみを使用している。CD又はDVD装置の内部光源が使用される場合、図15中のフォトダイオード又はレーザーはミラーに置き換えられる。赤外線又は赤色光を用いて幾つかのアッセイを遂行することができるが、大部分の利用分野にとって、付加的な光源を使用することが有利である。例えば、赤、黄、緑及び青の光を生成できるように、フォトダイオードアレイを製造することもできる。任意の与えられた波長のためにフォトダイオードを設計することが可能であり、したがって、フォトダイオードの数は、紫外線/可視スペクトル範囲全体を網羅するべく最高300にまでなり得る。レーザーはフォトダイオードに比べより強いパワーを生成し、より良好に集束されることから、好まれる傾向にある。特にマイクロキャピティ及びナノドットレーザーは非常に小さく、ほぼあらゆる波長を放射するべく製造することが可能である。光源は、BCDの使用の前にディスク上に取り付け、その使用後に取り外すことのできるモジュールと

して製造可能である。

ユニット作業

次に記述するのはユニット作業、すなわち、遠心分離、ろ過、液体移送、液体混合、カラム分離、加熱、冷却、電気対流及び電気泳動についてである。

遠心力は、IBCD内で液体を移送するのに使用する主要な力である。これは同様に、細胞を血漿から分離するときにも重要な遠心分離のためにも使用することができる。

この場合、試料取込みコンテナを有するフィルタを内含するのが有利である。

液体の移送においては、順序とタイミングが重要である。或る一定の反応部位までの適切な到着順を確実にするため、図9に例示されているような液体トレーンを作り上げることができる。一つの実施形態においては、連結用毛管38、39及び40を介して互いに流動的連結状態にある2つの主要な毛管36及び37が具備されている。主要な毛管の一つは、流体の流れを可能にするエア・チャンネルであり、標準的にこれは疎水性にされている。もう一つの主要なチャンネルは、液体の形で試薬を搬送し、標準的に親水性である。連結用毛管及びそれらに付随するキャピティは、全体として41、42及び43で示された試薬を貯蔵するために役立ち、互いとの関係におけるその相対的场所を維持することができる。流体が導かれる流体コンパートメント、及びこれらの流体を送出するタイミングは、流体各々の場所や、毛管のサイズや、流体の密度及び粘度や、ディスクの回転速度によって制御される。液体は、混合が望まれるのでない限り、混合を防止するため小さな気泡によって分離される。圧力勾配を防止するため、空気毛管は上流で全ての液体毛管と連結されている。液体が空気毛管に入るのをさらに防止するため、これらは疎水性を有している。

2つの溶液の混合は、Y字形編成に2本の毛管を合流させることによって行われる。これだけで、優れた混合が提供される。より効果的な混合を保証するため、毛管は合流後小さな周期的拡大部分を有することができる。IBCDの回転の結果、コンテナ内での効率の良い混合がもたらされるという点に留意しなくてはならない。

透析において、液体は、緩衝液と収納する膜と接触状態にある。膜の分子量締切りは、300~500000ダルトンの間となるように選択され得る。液体の非常に薄い層のみが透析膜と接触していることから、透析は非常に高速である。しかしながら、液体と緩衝液の比率は1:10と1:100の間にあるにすぎず、したがって透析は定量的ではない。大部分の用途について、これで充分である。

ゲル、吸着及びイオン交換クロマトグラフィーの全てが可能である。さまざまな分子種がクロマトグラフィー媒質により分別され、従来のクロマトグラフィーの場合と同様に、別々に毛管から退出する。バルブを利用して、或る種の分別物を選択しアッセイ要素内に誘導することができる。

加熱は、電気により最もうまく行うことができる。上部及び下部電極は約500 μ mだけ隔離されている。溶液がイオンを含有する場合、システムは事実上短絡され、加熱する。加熱は、バッテリー又はコンテナのいずれかからイオンを除去することによって終結させることができる。回路内にサーモスタットを内含させることによって恒常な温度を達成することができる。バイメタル要素は、予め設定された温度より低温で回路を閉じ、さらに高い温度でこれを開放できる非常に単純なサーモスタットである。CD又はDVD装置のレーザによってもう一つの加熱メカニズムが提供される。特に、CD-R装置は強力なレーザを有する。必要に応じて、キャビティの上面又は底面のいずれかが透明なレーザにより隔離されている液晶フィルムを有することができる。キャビティのもう一方の側面上には、反射層がある。キャビティの温度が、主たる遷移温度より低い場合、液晶は光を散乱させ、いかなる反射も観察されない。主たる遷移温度より高温では、光は反射し戻され、加熱は中断され得、これはいずれにせよ比較的効率の悪いことである。冷却は、好ましくは、吸熱溶解すなわち溶解物質の存在による熱の吸収によって提供される。冷却する溶液及び冷却されるべき溶液は、薄いアルミニウム、銅、銀又は金のフィルムで分離されるべきである。冷却は同様に、受動的空冷によっても発生させることができる。この方法では、周囲温度までしか冷却されないが、大部分の用途にとってこれで充分である。加熱及び冷却は、一つのキャビティ内、又は逐次交互に使用する加熱キャビティ及び冷却キャビティのシーケンス内のいずれかで、繰り返し交互に行うこともできる。こうしてIBCDの内側で、PCR増幅を行うことが可能になる。

特定の利用分野において、電気対流、電気泳動、及び等電集束を各々利用することができる。電気対流においては、材料は、それを成分へと分離しようとせずに移送される。電気泳動では、分離が主たる目的である。分離は、対流を妨げるゲルを使用することによって容易になる。距離が非常に短いことから、利用可能な電界強度は適切な電気泳動にとって充分なものである。同じ理由で、分離のために必要な時間はかなり短かく、約1～5分、さらには1分未満であり得る。有用な電気対流は数秒で行うことができる。等電集束は基本的に、pH勾配内での電気泳動である。pH勾配は、pHが漸進的に変化するように異なる緩衝液を各々収納する平行な毛管のアレイによって作り出される。このことは、図16にて実証されている。緩衝液の大部分が毛管内にとどまり、こうして等電集束中のpH勾配の存在が保証されることになる。集束が完了した時点で、成分は遠心力により毛管に沿って移動され得、そうでなければ直交する電気泳動を実行することができる。この方法は、人間の血漿タンパク質のほぼ完全な分別を可能にする（アンダーソン、トレーシー及びアンダーソン（Anderson, Tracy and Anderson）

による「血漿タンパク質」第2版、第4巻、アカデミック プレス インコーポレイティド（Academic Press Inc.）、1984）。

アッセイ部の特に好ましい構成が、図10に例示されている。アッセイ要素は、前述のとおりスペーサ分子と反射球を含有するが、ディスクのアッセイ部において単数又は複数の毛管チャネルの中に適切に位置設定され得る線形アレイの形でそれらを含有している。記述した通り、分析物は、（Aで例示されているように）分析物に対し受容性を有するか又は相補性を有する側枝を備えたスペーサ分子に結合し、洗浄後、結合した分析物は、（Bで例示されているとおり）アレイの特定の場所に位置設定される。結合した分析物の存在は、すでに記述されてきたように従来のコンパクトディスク読取り装置及びそれに付随するソフトウェアを用いてといったように、従来のアドレス決定によって決定される。

例 1

オリゴヌクレオチド分析のためのアッセイセクタ（図2、アッセイセクタ）

- 20 DNAを含有する試料をドデシル硫酸ナトリウムと混合して、細胞を溶解させる。この溶液を「試料入口（Sample in）」と記されたコンテナの中に移送し、ディスクを回転させる。試料をろ過し、相補的オリゴヌクレオチドの混合物と混合させる。これらのヌクレオチドは、分析すべきオリゴヌクレオチドと相補性を有し、かつ、一つの端部にチオール基を有する。「試料調製部（Sample prep.）」と記されたコンテナ内でハイブリダイゼーション（hybridization）を進める。任意には、このコンテナを加熱することができる（図示せず）。適切なイン
- 30 キュベーションの後、ディスクを回転させる。試料が「試料分離部（Sample sep.）」と記されたコンテナの中に移送される間、この試料は、側方毛管から送り出されたヌクレアーゼS溶液と混合される。図8で例示されたように2つの金電極と一つのバルブを有する「試料分離部」のコンテナの中で、混合物をインキュベートさせる。さらに、下部電極を、イソチオシアネート末端基を持つスペーサでコーティングする。これらのイソチオシアネート末端基は、試料とハイブリダイズされるものをいくつか含むオリゴヌクレオチドを含有するチオールに
- 40 結合する。DNAの中でハイブリダイズされなかった部分は全て、消化され洗い流される。バッテリーは、このとき動作状態となる。これは、酸及び銅イオンが空のバッテリー内に流れ込む速度によって調整される。コンテナは加熱し、結合されたオリゴヌクレオチドは放出され、バルブは切り換えられる。

オリゴヌクレオチドは、アッセイ部域内に流し込まれる。適当なインキュベーションの後、リガーゼはアッセイ部域内に到着し、スペーサ分子上の2つの側枝は、試料が適切なオリゴヌクレオチドを含有する場合、連結される。不安定なスペーサは切断される。スペーサがシロ

キサン基を含有する場合、このような切断はふっ化物イオンの添加によって行われる。IBCDを高速で回転させることによって、緩い結合状態の金球は洗い流される。直ちに読取りを行うことが可能である。

例2

細胞及びウイルスの検出のためのアッセイ要素

本願明細書の他の箇所にて記述されたアッセイ要素の変形実施形態は、前述したオリゴヌクレオチドや、抗体や、抗原などよりも大きいものであるウイルス粒子、細菌粒子、細胞、及びその他の粒子の検出に有用である。ウイルスは標準的に、 $0.5\mu\text{m}$ 未満の直径をもつほぼ球形の粒子である。細菌は、球状又は棒状のいずれかである。その最大寸法は、べん毛及びその他の類似の外部繊維を除いて $2\mu\text{m}$ 未満である。これらの病原体は、それらを検出するために用いられる金球よりも小さいか又はほぼ同じサイズを持ち、スぺーサの2つの側枝との相互作用は制限され得る。このような理由から、これらの側枝は、図11A～図11Cに例示されているようにスぺーサではなく、IBCD及び金球の表面と連結されている。金球は、スぺーサ分子の一方の端部においてスぺーサ分子45に付着され、このスぺーサ分子のもう一方の端部では基板46の表面に付着されている。

スぺーサ分子には、前述のとおり、シロキサン部分といったような標準的分割部位47が備わっている。側枝が基板と分割部位との間及び金球と分割部位との間でスぺーサ分子に付着されている前述の実施形態とは対照的に、側枝は金球及び基板の表面に付着される。例示を目的として、図11A～図11Cでは、オリゴヌクレオチド48は、基板の表面に付着され、オリゴヌクレオチド47は、金球の表面に付着させられる。このとき、相補的オリゴヌクレオチドが、例示されているとおりの基板及び金球上のオリゴヌクレオチドに付着されている50及び51で表された特定の結合対のメンバーと接合される。こうして、細胞が抗体又はその他の認識分子と結合するためのはるかに大きな空間が得られる。

スぺーサの分割のシーケンスに関して討議する際は、国際公開公報W098/01533 (1998年1月、WIPOより)を参照されたい。この国際公開公報の開示内容は、先行技術として本願明細書に記載されている。

スぺーサは各々、なお少なくとも一つの分割部位をもつ。これらは、付着した側枝分子を全く持たないという点を除いて、全ての点で、前述のものと同じである。例えば細胞がアッセイ部に到達し、それが、それぞれの相補的メンバと特異的結合対を形成する部分を含有する場合、金球と基板との間には結合ループが形成される。スぺーサ分子が分割されるとき、金球は、基板上に保持され、細胞の存在は、前述のとおり検出可能である。しかしながら、特異的結合対が全く形成されない場合、スぺーサの分割時点で、金球は基板に付着された状態にとどまらず、除去される。

スぺーサが付着されるのと類似の要領で、抗体又はその他の認識分子を基板に付着させることが可能である。IBCD上の全てのスぺーサは同一であり、表面上のアミノ基又は類似の活性基に同時に付着させられる。アミノ基の約半数がスぺーサの付着のために用いられる。残りの半数は、認識分子を基板にカップリングするのに用いられる。IBCDの表面上の全ての認識分子が類似している場合、これらはスぺーサと同時に付着させることができる。代替的には、認識分子がアッセイ部について特異的である場合、これらの分子を、接触プリンティング、インクジェットプリンティング又は微細毛管被着により局所的に送り出すことができる。

金球がスぺーサ内のチオール基に付着された後、もう一方の認識分子は同じくチオール基を介して金球に付着させられる。この目的で、これらの認識分子はまず最初に、保護されたチオール又はアミノ基を含有するスぺーサと接合される。アミノ基は、チオール基が導入されるように誘導体合成がなされ得る。金球に付着されるべき種々の認識分子は、その他の認識分子がIBCDの表面に付着されたのと類似の要領で送り出される。

認識分子はオリゴヌクレオチドであってよい。これらのオリゴヌクレオチドは、さらに、相補的オリゴヌクレオチド-生体分子間の接合体とハイブリダイズされ得る。このアプローチは、例えば、複数のアミノ基又はチオール基を含有するタンパク質といったような、感応性及び反応性を有する生体分子の付着を可能にする。

金球に結合された認識分子は、密に結合されているにもかかわらず、球のまわりで自由に拡散できる。両方の認識分子により認識される細胞は、金球をIBCDの表面に結合させる結合ループを完成させる。スぺーサを分割した後、金球は保持され、CD-ROM又はDVD読取り装置により検出される。

同じアッセイ部内の多数の異なる認識分子を使用することが可能である。このアプローチの利点は、或る病原体種の全ての既知の突然変異体を一つのアッセイ部上で検出できるということにある。さまざまな突然変異体を同様に、特異的認識分子を含有する異なるアッセイ部上で特徴づけすることも可能である。

IBCDは汎用分析器である。これは使用が容易で、しかもその最も先進的形態において、全ての試薬を含有し、試料のみが付加される。これは、臨床試験室、病院、診療所及び家庭内で使用できるものである。家庭内使用では、情報はインターネットを介して診療所へとロードされ得る。IBCDは、各患者の遺伝的特徴が常に測定されるように設計することが可能である。約35の多形性点 (polymorphism points) が全ての人に固有の「バーコード」を与えるのに充分である。こうして、試験管又はラベルの混同に起因する誤りの可能性は無くなる。実施可能なアッセイとしては、免疫アッセイや、DNA試験や、細胞計数及び細胞形状測定や、組織試料内のガン細胞の検出

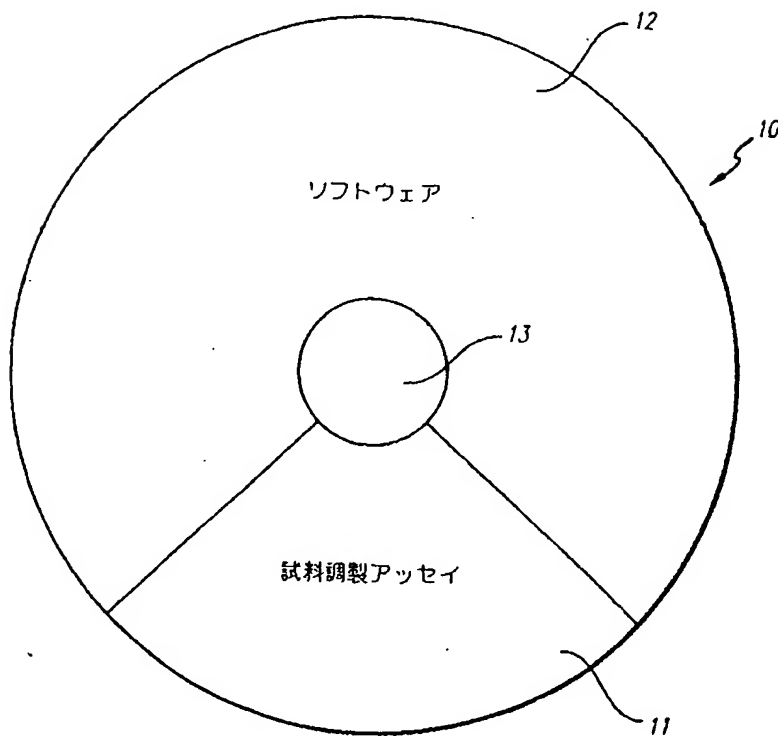
や、血液化学や、電解質分析が含まれるが、これらに限られるわけではない。その他の利用分野としては、薬物被疑者のマスキリングや、食物及び環境の安全性分析や、戦場における病原体及び毒素の監視が含まれる。

例3

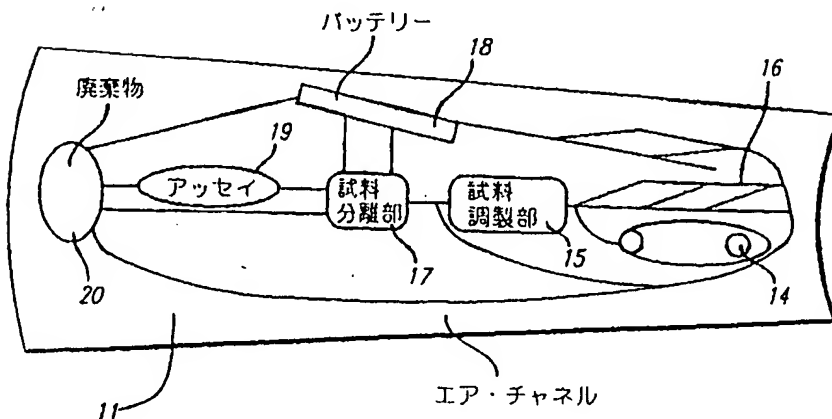
リパーゼ活性の濁度測定アッセイ

試薬キャビティは、トリス緩衝液 (25mM) 中 pH9.0 でデオキシコール酸ナトリウム (30mM) と CaCl_2 (100 μM) を含有する 15 μL の安定化されたトリオレイン (250 μM) エマルジョンを収納している。試料調製チャンバは、凍結乾燥した豚の補リパーゼ (porcine colipase) (0.5 μg) を含有する。2 マイクロリットルの血清を、安定化されたトリオレイン及びその他の試薬と合わ

【第1図】



【第4図】

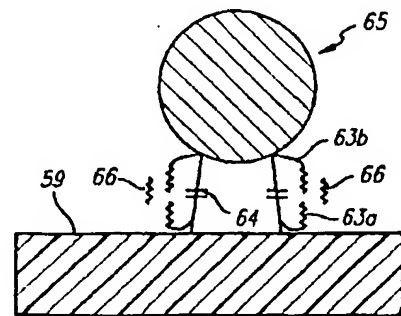


せて、試料調製チャンバ内に (図17に示されているような装置を用いて) 取り込む。混合物の一部 (5 μL) をさらにキュベットに移す。出口毛管はディスクの中心に向かうことから、逆方向の圧力がさらなる流れを妨げることになる。340nmでの吸光度を1分間隔で読み取る。

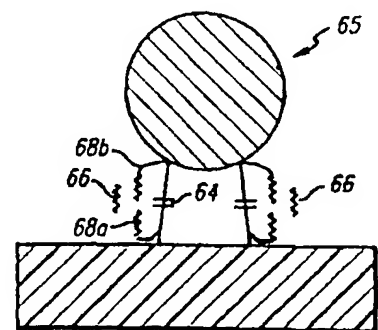
1分当たりの吸光度の変化を示す $\Delta A/\text{分}$ は、リパーゼ活性の尺度である。

本発明を幾つかの特定の実施形態に関して記述してきたが、これに対する修正及びその等価物及び変形形態は当業者にとって明白であり、それは添付の請項の範囲内に入ることが意図され又その中に内含されているということを理解すべきである。

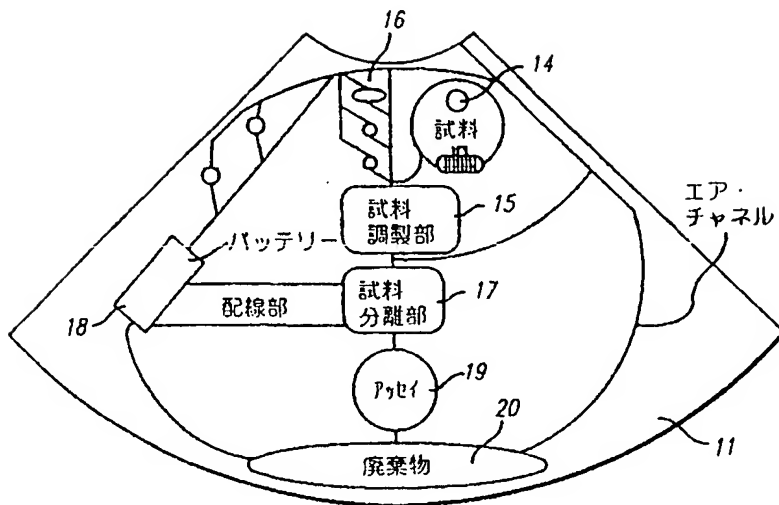
【第14A図】



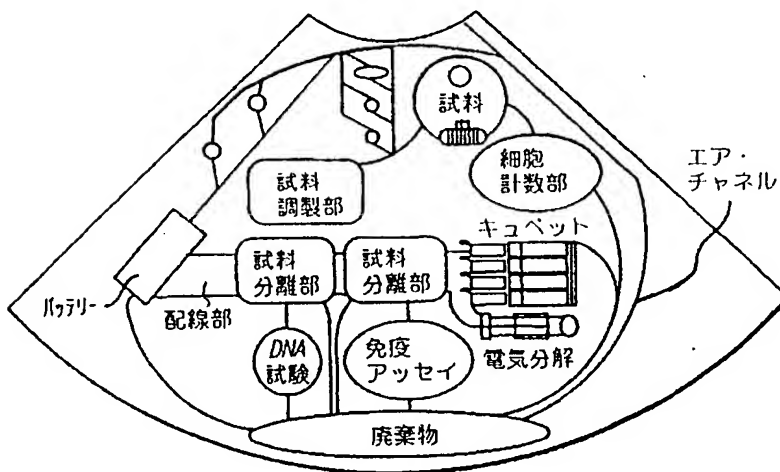
【第14B図】



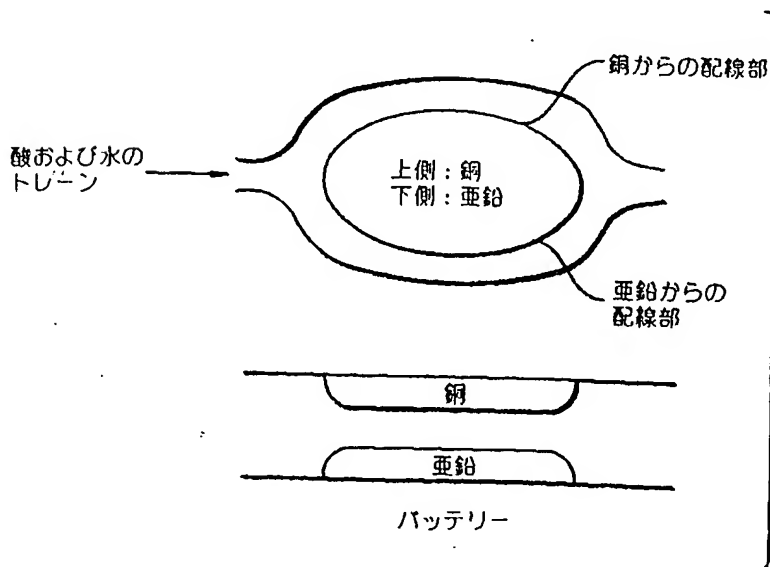
【第2A図】



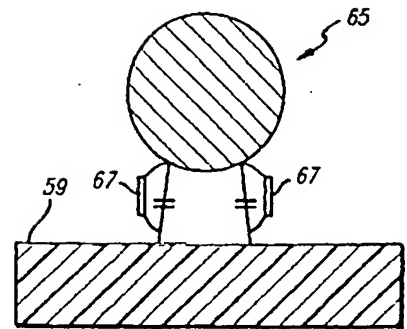
【第2B図】



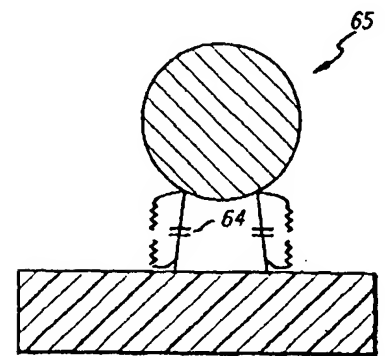
【第5図】



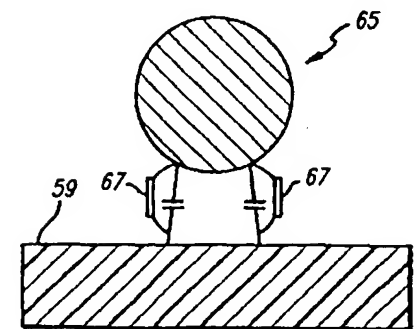
【第14C図】



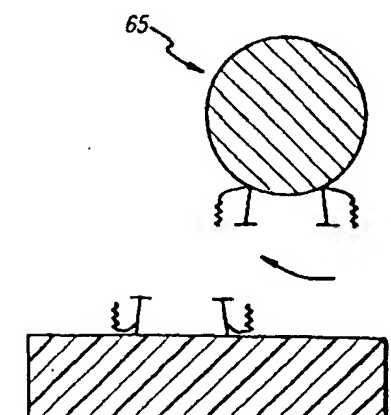
【第14D図】



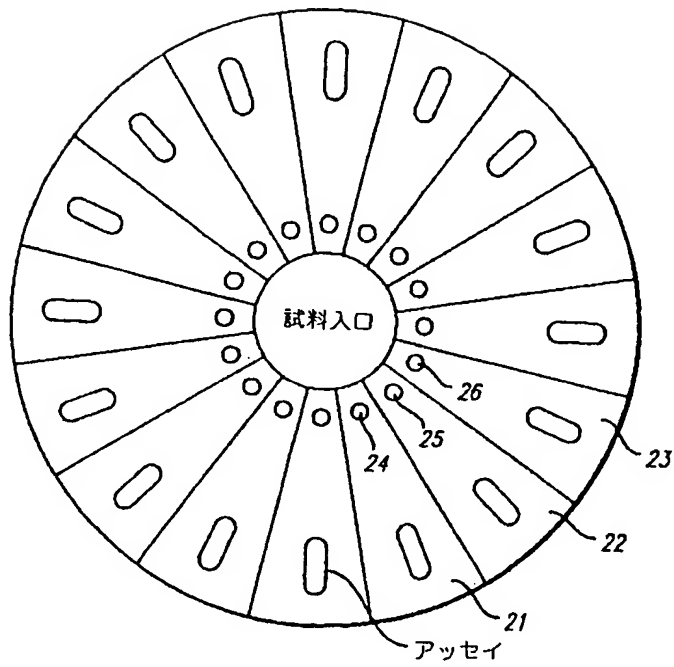
【第14E図】



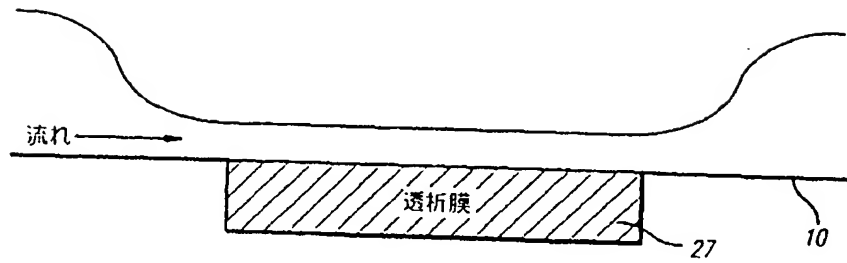
【第14F図】



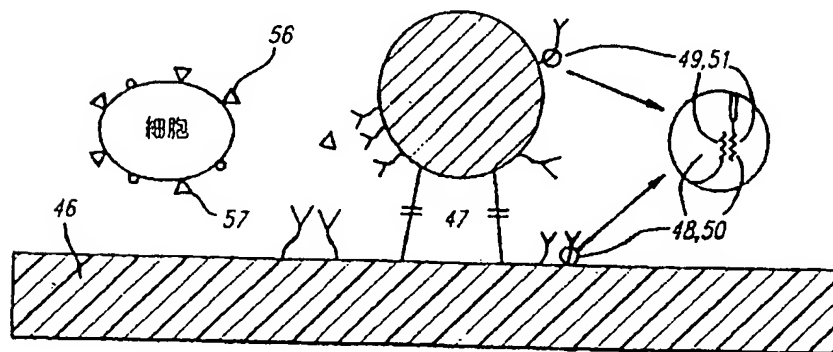
【第3図】



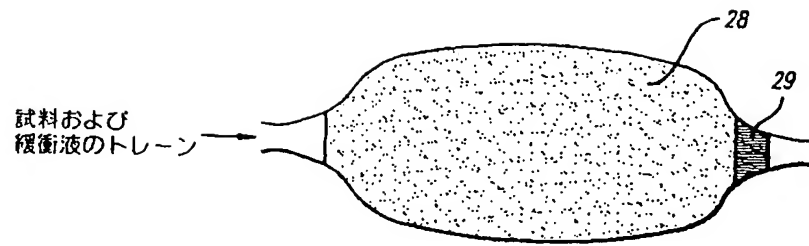
【第6図】



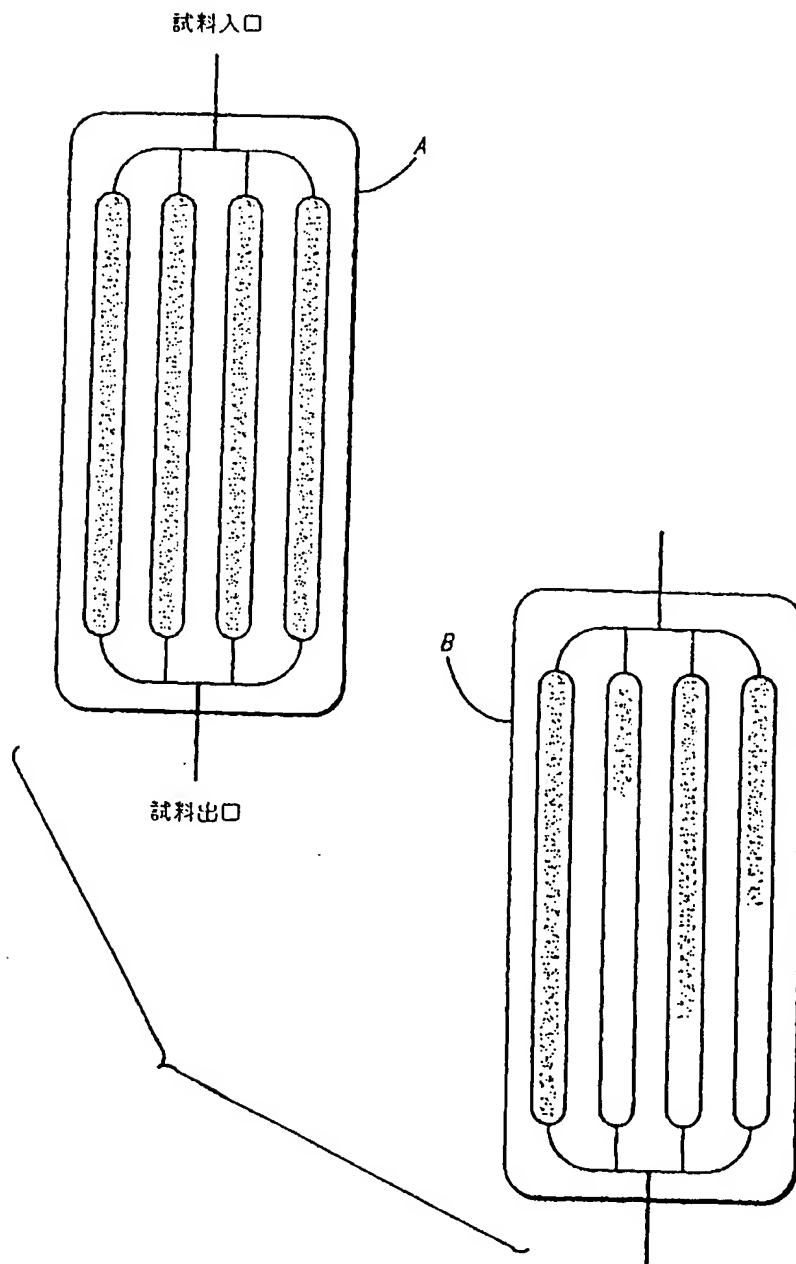
【第11A図】



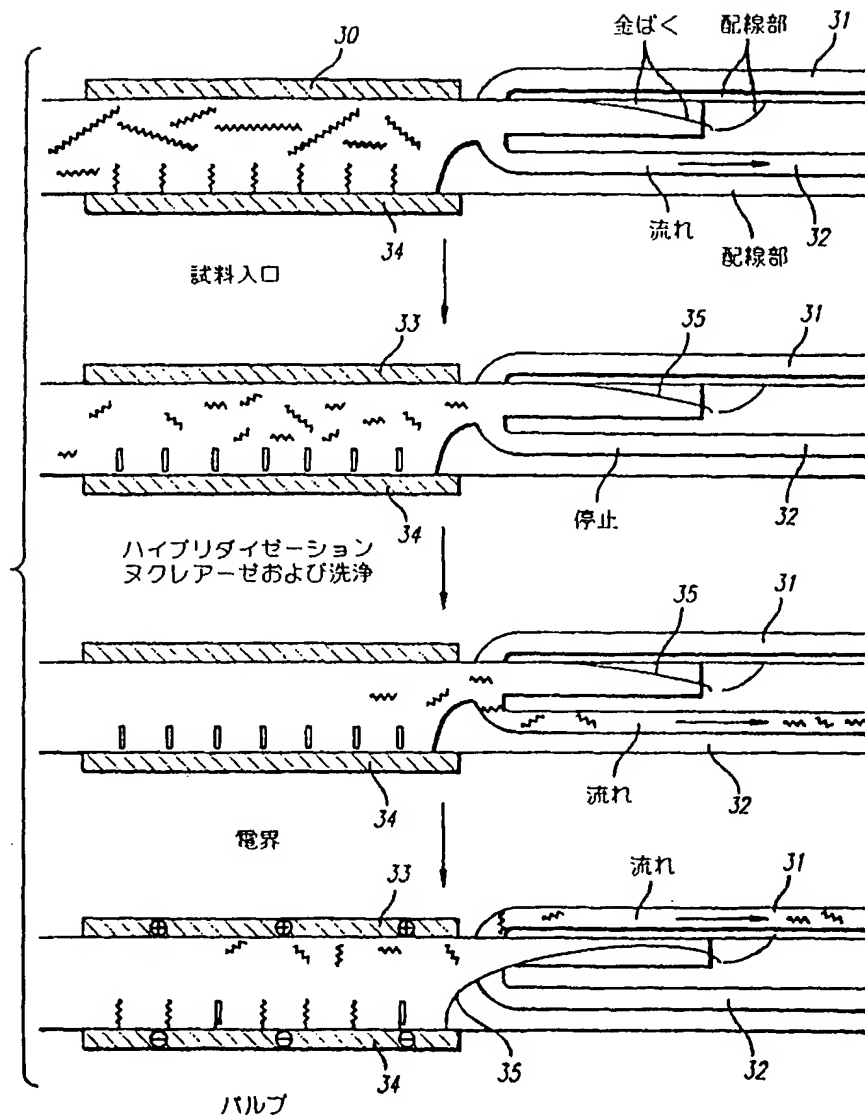
【第7図】



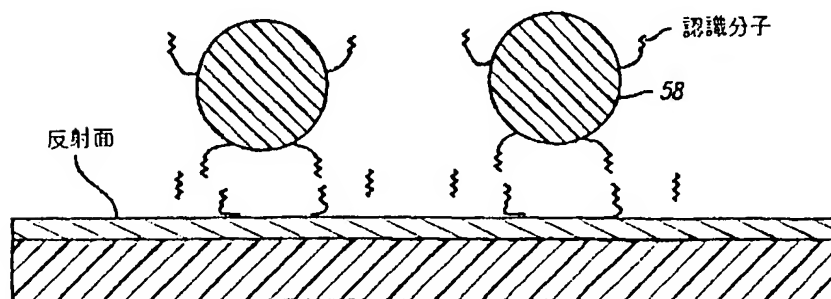
【第10図】



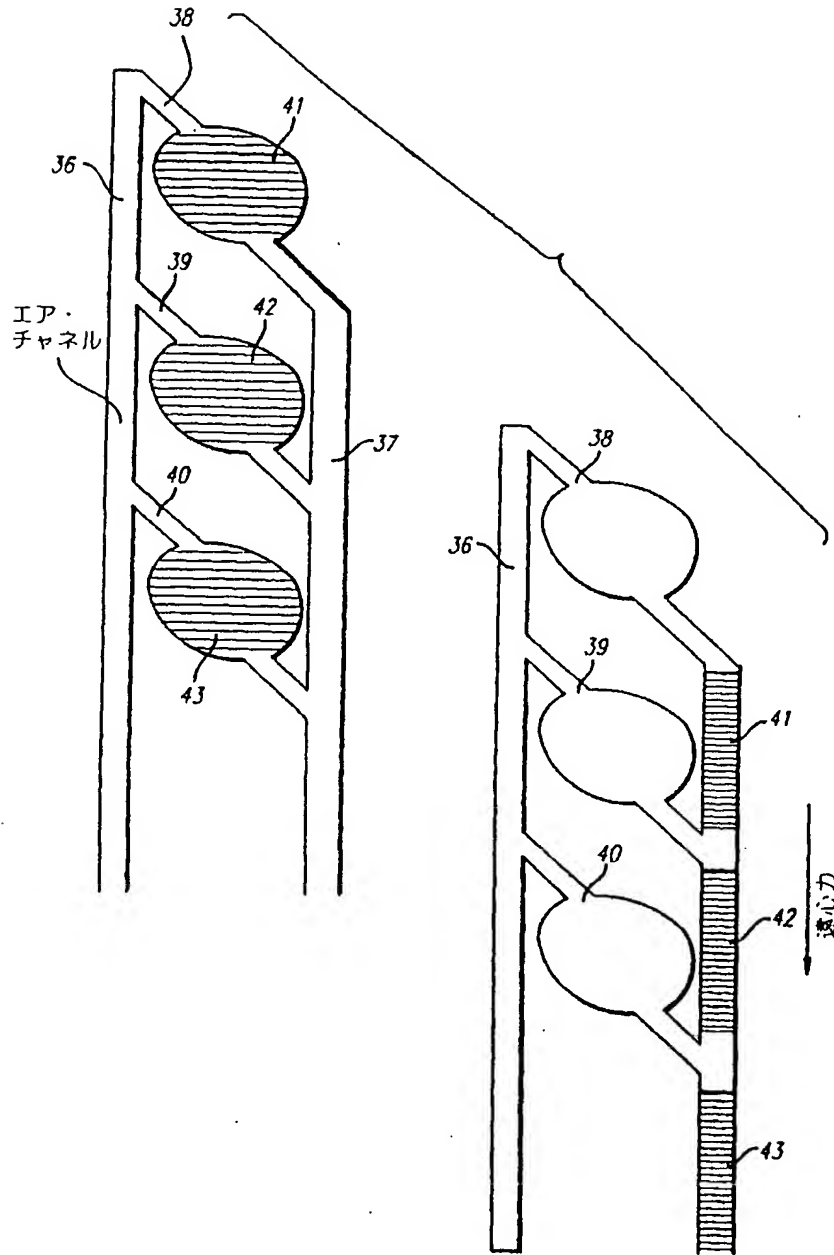
【第8図】



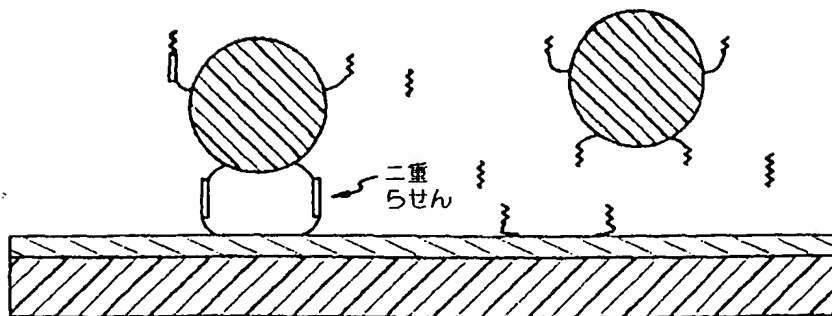
【第12A図】



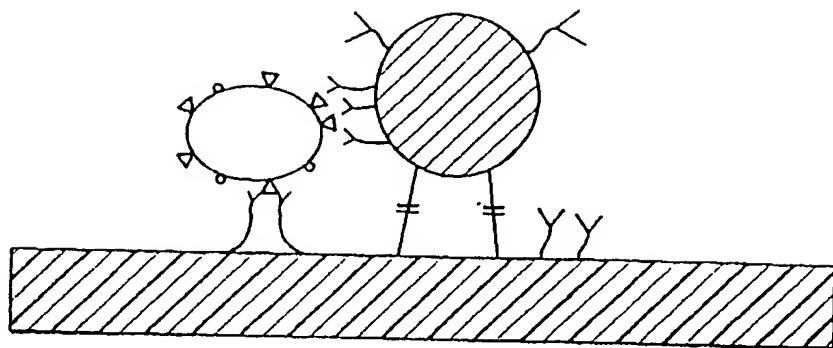
【第9図】



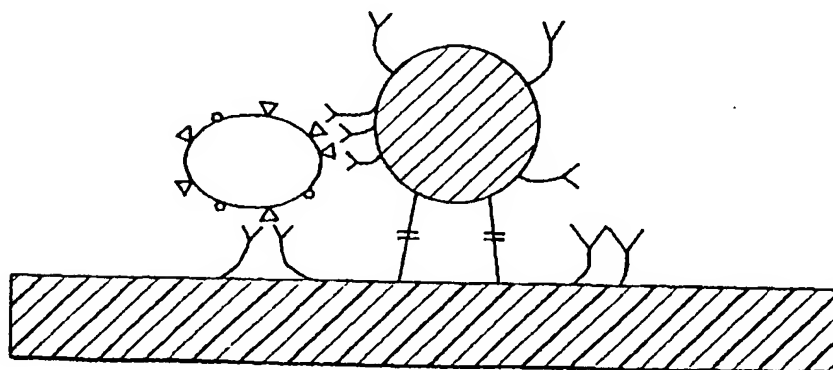
【第12B図】



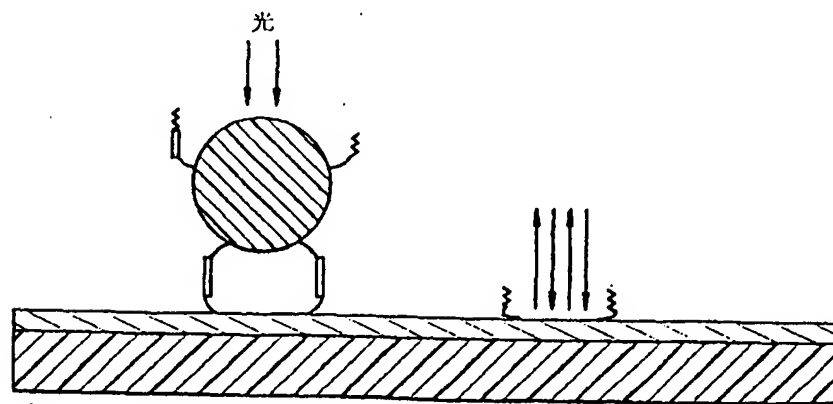
【第 1 1 B 図】



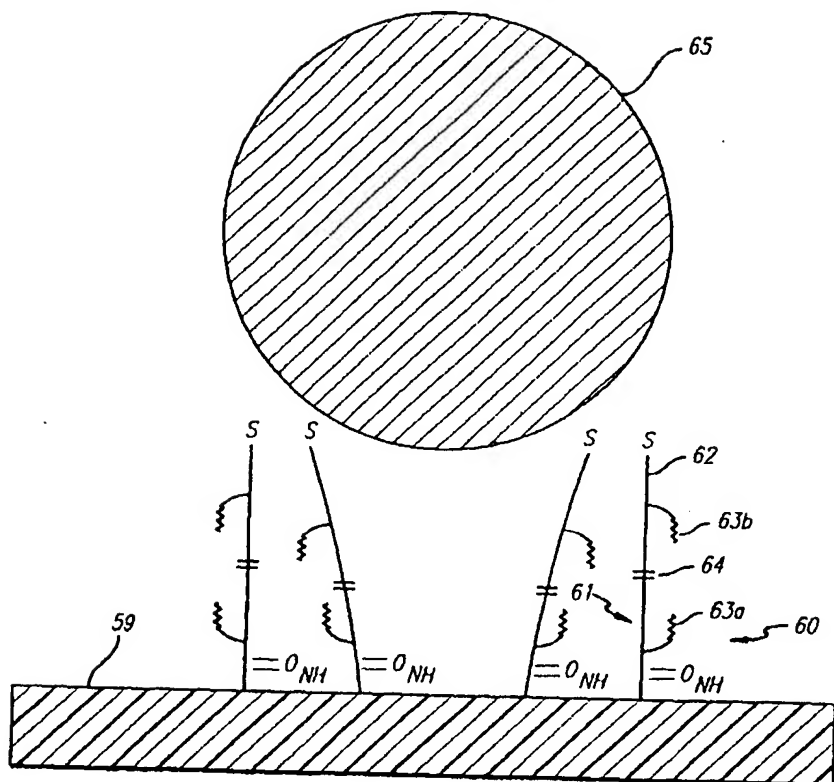
【第 1 1 C 図】



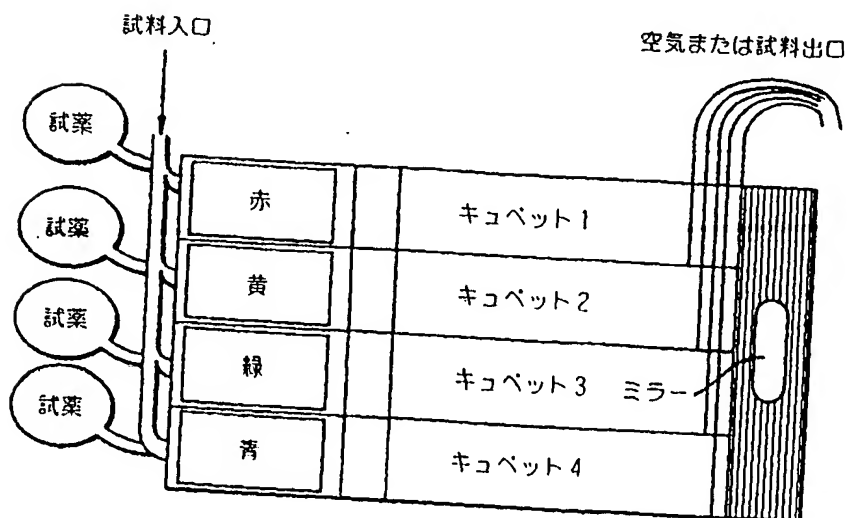
【第 1 2 C 図】



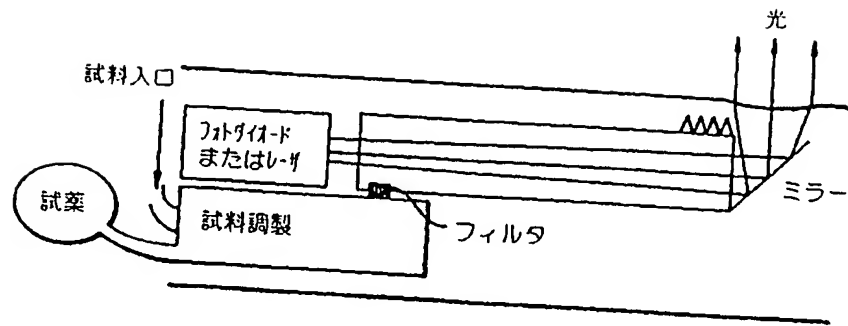
【第 13 図】



【第 15 A 図】

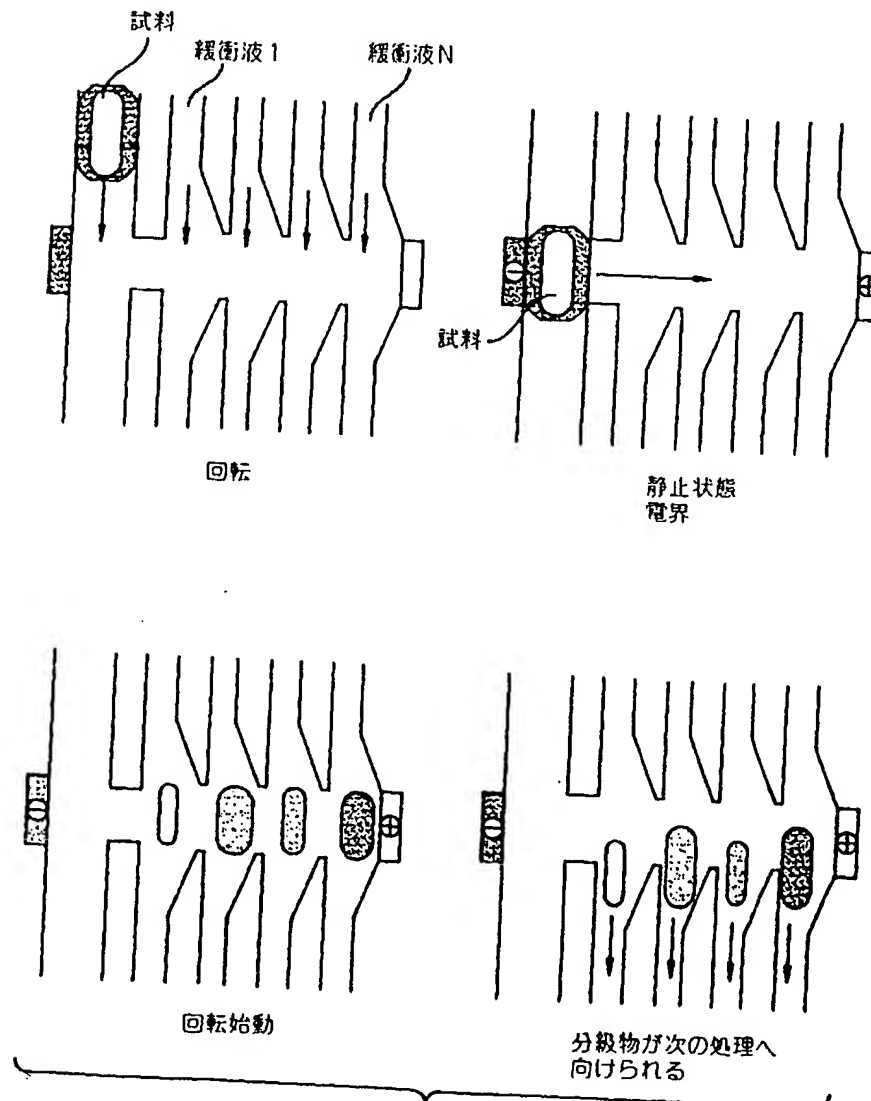


【第15B図】

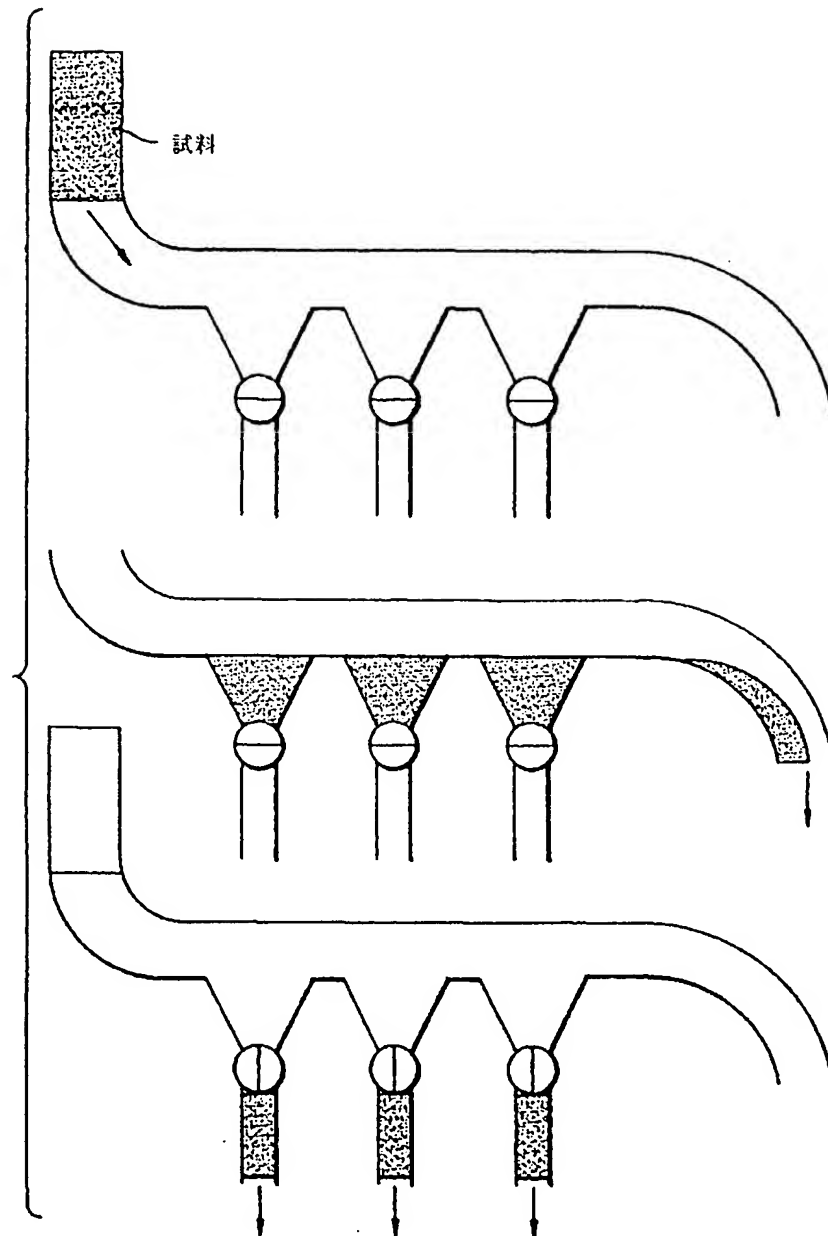


キュベット・アセンブリ

【第16図】



【第17図】



フロントページの続き

(56) 参考文献 特開 平8-62225 (J P, A)
 特開 平9-15122 (J P, A)
 特開 平2-75956 (J P, A)
 特開 平3-35144 (J P, A)
 特開 昭60-238761 (J P, A)
 特開 昭59-87356 (J P, A)
 国際公開91/18656 (WO, A 1)

(58) 調査した分野(Int. Cl.⁷, DB名)

G01N 35/02
 G01N 33/483
 G01N 35/00
 G01N 37/00 101

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER: _____**

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.